Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 2, Summer 2021, p. 221-233

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۲۳۳-۲۲۱

مقاله علمی- پژوهشی

تأثیر مکمل دانه کتان در جیره بر ترکیب اسیدهای چرب، خصوصیات کیفی اسپرم و برخی پارامترهای خونی در قوچ کردی

سعید فیروزه[۱]، امیر هوشنگ فلاح راد[۲*]، پژمان میر شکرایی[۲]، عباس پرهام[۳]، محسن دانش مسگران[۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۳/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۷/۲۸

چکیده

دانه کتان منبع غنی از اسید آلفا لینولنیک (امگا۳) با خاصیت آنتی اکسیدانی بالا می‌باشد، که می‌تواند در سنتز هورمون‌های جنسی و بهبود کیفیت اسپرم در گونه‌های مختلف نقش داشته باشد. مطالعه حاضر اثرات دانه کتان بر خصوصیات کمی و کیفی اسپرم و برخی پارامترهای خونی را بررسی می‌کند. در این تحقیق که در مدت ۱۲ هفته اجرا گردید ۱۵ راس قوچ نژاد کردی انتخاب و به صورت تصادفی به سه گروه تقسیم شدند. گروه شاهد دریافت کننده جیره پایه و گروه دوم که شامل جیره پایه و ۵ درصد دانه کتان و گروه سوم محتوی جیره پایه و ۱۰ درصد دانه بود. نتایج نشان داد که غلظت اسپرم، نسبت اسپرم زنده، تحرک کل و عملکرد غشای پلاسما در تیمار ۱۰ درصد دانه کتان در مقایسه با سایر گروه‌ها بیشتر بود ($P<0.05$). دانه کتان باعث افزایش درصد اسپرم با آکروزوم نرمال شد ($P<0.01$). با این حال، درصد اسپرم‌های غیر طبیعی پس از دریافت ۱۰ درصد دانه کتان و در پایان هفته ۱۲ در مقایسه با سایر گروه‌های مربوطه کاهش یافت ($P<0.05$). نتایج نشان داد که مکمل دانه کتان بر قطر بیضه اثری نداشت اما غلظت تستوسترون پلاسما را در گروه ۱۰ درصد نسبت به گروه شاهد افزایش داد ($P < 0.05$). اثر افزودن مکمل دانه کتان، اثر زمان و اثر متقابل آنها بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز معنی دارنبود. جیره ۱۰ درصد کتان موجب افزایش معنی داری اسید چرب DHA (دوکوزاهگزاانوئیک DHA=Docosahexaenoic acid) در چربی اسپرم شد ($P<0.05$). نسبت اسیدهای چرب امگا سه به شش افزایش یافته و نیز نسبت اسیدهای چرب اشباع به اسیدهای چرب با چند باند مضاعف در گروه ۱۰ درصد در مقایسه با سایر گروه‌ها کاهش یافت ($P<0.05$). نتایج نشان داد که افزودن ۱۰ درصد دانه کتان به جیره پایه قوچ‌های کردی در خارج از فصل تولید مثل می‌تواند سبب بهبود کمی و کیفی شاخص‌های ارزیابی اسپرم و در نهایت بهبود باروری آنها گردد.

کلمات کلیدی: اسپرم، اسید چرب ، امگا ۳ ، دانه کتان، قوچ کردی.

مقدمه

تحقیقات نشـان داده اسـت که چندین عامل مانند نژاد ، سـن ، فصل و مدیریت تغذیه ای بر کیفیت اسپرم تولید شده و به تبع آن بر باروری قوچ ها تأثیر می گذارد (۳). اســیدهای چرب بخش عمده سـلول‌های جانوری را در بر می‌گیرد و در سـلول‌های اسـپرماتوزوا نه تنها منبع انرژی می‌باشد بلکه در کلیه رخدادهایی که منجر به باروری می‌شـود دخالت دارد (۳۶). یافته‌ها نشـــان می‌دهد که چربی‌های اســـپرماتوزوا در اعمالی مانند تحرک، قابلیت زنده مانی و بلوغ اهمیت دارند همچنین نسبت اسیدهای چرب غیر اشباع (UFA) ممکن است در خصوصیات فیزیکی مانند سیالیت غشاء نقش داشته باشد (۲). اسـپرم اکثر پسـتانداران مانند انسـان، گاو، میمون و قوچ دارای سـهم بالایی از دوکوزاهگزاانوئیک اسید (DHA) می‌باشد. پستانداران قادر به ساخت اسیدهای چرب n-3 نیستند لذا این اسیدهای چرب ضروری باید از طریق جیره تامین گردد (۱۱). پس از تامین اســیدهای چرب کوتاه زنجیر ALA از طریق جیره غذایی، پسـتانداران قادر می‌باشـند اســیدهای چرب بلند زنجیر DHA و EPA را در بدن خود از ALA طی مراحل دی سچوراز و طویل سازی سنتز کنند (۱۷).

۱- دانشجوی دکترای تخصصی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد
۲- دانشیار، گروه علوم درمانگاهی،دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد
۳-دانشیار، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد
۴ - استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: Email: umfallah@um.ac.ir)
DOI: 10.22067/ijasr.v13i3.87332

دانه کتان یا (flax seed)، یکی از مهمترین منابع گیاهی n-3 PUFA است (۳۱). روغن دانه کتان حاوی ۹۰٪ PUFA است که حدود ۵۰٪ آن اسید α- لینولنیک است (۲۶). دانه کتان به‌عنوان منبع امگا ۳ می‌تواند کیفیت اسپرم را بهبود بخشد و اسپرم را بر علیه شرایط استرس با حفظ یکپارچگی غشـاء و قدرت زنده مانی محافظت کند (۱۷) مطالعات نشان می‌دهد که DHA می‌تواند سبب بهبود تحرک اسپرم و افزایش سطح تستوسترون در خون گوسفند و بز گردد و دانه کتان یک منبع مناسب از DHA است (۱۰).

با توجه به تاثیرات تغذیه و فصل بر راندمان باروری قوچ‌ها، در این تحقیق اثر دانه کتان به عنوان منبع اسید چرب غیر اشباع (امگا ۳) با خاصیت آنتی اکسیدانی بر روی شاخص‌های کمی و کیفی اسپرم قوچ و تغییرات آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز به‌عنوان یکی از فاکتورهای آنتی اکسیدانی در فرایند استرس اکسیداتیو در خارج از فصل تولید مثل مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به مدت ۲ ماه در مرکز اصلاح نژاد گوسفند کردی واقع در شهرستان شیروان استان خراسان شمالی انجام گرفت. در این تحقیق ۱۵ راس قوچ نژاد کردی با میانگین سنی ۳-۵ ساله و میانگین وزن ۲/۵±۶۵ کیلوگرم انتخاب شده و بصورت کاملاً تصادفی در ۳ گروه با جایگاه جداگانه مطابق جیره طرح نگهداری شدند. گروه‌های آزمایشی جیره پایه با انرژی و پروتئین یکسان دریافت می‌کردند (انرژی متابولیسمی ۲/۴۵ مگاکالری در کیلوگرم ماده خشک و پروتئین خام ۱۲/۱ درصد ماده خشک).

جدول ۱- اجزاء و ترکیب شیمیایی جیره‌ها

Table 1- Ingredient and chemical composition of the experimental diets

اجزاء Ingredients (%)	جیره پایه Basal diet	جیره پایه + ۵٪ دانه کتان Basal diet + 5% flaxseed	جیره پایه+۱۰٪دامه کتان Basal diet + 10% flaxseed
یونجه Alfalfa	17.3	17.3	17.3
سیلاژ ذرت Corn silage	27.2	27.2	27.2
کاه گندم Wheat straw	12.5	12.5	12.5
جو barley	23	18	13
سبوس گندم Wheat bran	13	13	13
کنجاله کلزا Canola meal	5	5	5
دانه کتان flaxseed	0	5	10
مکمل دامی۱ Premix	1	1	1
نمک salt	1	1	1
اجزای شیمیایی جیره‌ها Chemical composition			
انرژی متابولیسمی(مگاکالری در کیلوگرم ماده خشک) Metabolizable energy (Mcal/ (Kg DM	2.36	2.36	2.36
پروتیئن خام(٪) Crud protein(٪)	12.2	12.2	12.2

۱ - ترکیب مکل دامی در کیلوگرم: ویتامین A ۵۰۰ هزار واحد بین المللی، ویتامین D3 ، ۱۰۰ هزار واحد بین المللی، ویتامبن E ، ۲۵۰ هزار واحد بین المللی، آهن، ۳ هزار میلی گرم، منگنز، ۲ هزار میلی گرم، روی ۳ هزار میلی گرم، کبالت ،۱۰۰ میلی گرم، فسفر، ۹۰ هزار میلی گرم، کلسیم، ۱۸۰ هزار میلی گرم، سدیم، ۶۰ هزار میلی گرم

[1]Composition of animal meat per kilogram: Vitamin A 500 thousand international units, Vitamin D3, 100 thousand international units, Vitamin E, 250 thousand international units, Iron, 3 thousand mg, Manganese, 2 thousand mg, Zinc 3 thousand, Cobalt, 100 Mg, phosphorus, 90 thousand mg, calcium, 180 thousand mg, sodium, 60 thousand mg

جدول ۲- ترکیب اسیدهای چرب دانه کتان جیره (درصدی از چربی در ترکیب چربی کل جیره)

Table 2- Fatty acids composition of the flaxseed diet (as the proportion of the total fat in the diet)

اسید چرب Fatty acids	درصد %
اسید میرستیک C14:0 Myristic (C14:0)	0.08
اسید پالمتیک C16:0 Palmitic acid (C16:0)	6.3
اسید استئاریک C18:0 Stearic acid (C18:0)	4.19
اسید اولئیک C18:1 Oleic acid(C18:01)	26.08
اسید لینئولئیک C18:2 Linoleic acid (C18:2)	13.7
اسیدآلفا لینولنیک C18:3 α-Linolenic acid (C18:3)	44.64

جیره حیوانات بر اســـاس جدول احتیاجات غذایی (NRC 1985) تنظیم شده بود. جیره‌های طرح شامل۱) گروه کنترل جیره پایه بدون دانه کتان ۲) جیره پایه + ۵٪ دانه کتان و گروه سوم جیره پایه +۱۰٪ دانه کتان و همه گروه‌ها بطور آزاد به آب دسـترسـی داشـتند. جیره به صـــورت مخلوط کامل و ۲ بار در روز در ســـاعات ۸ و ۱۷ در اختیار حیوانات قرار می‌گرفت. جدول (۱) درصـد و ترکیب شـیمیایی اجزای موجود درجیره و جدول (۲) پروفایل ا سیدهای چرب جیره و دانه کتان را نشان می‌دهد.

جمع آوری منی و ارزیابی آن

نمونه منی بوسـیله دسـتگاه الکترواجاکولاتوردر ابتدا ، پایان هفته ۱و پایان هفته ۱۲ از تمامی قوچ‌ها گرفته شـد. نمونه‌ها بلافاصـله به آزمایشـــگاه منتقل و در بن ماری ۳۷ درجه قرارگرفت. همه نمونه‌ها برای غلظت،تحرک،درصـد مرده و زنده بودن و غشـای آکروزوم مورد ارزیابی قرارگرفتند. غلظت اسـپرم به کمک لام هموسـایتومتر پس از رقیق کردن با ائوزین ۲٪ (۱:۲۰۰) محا سبه شد. برای برر سی تحرک اســپرم از ســیســتم CASA (test sperm 2.1 videotest st.petersburg Russia) اسـتفاده شـد. این سـیسـتم شـامل یک میکروسـکوپ فازکنتراسـت (model LX400. Lambomed inc) و یک دوربین (SDC-313B, Samsung Techwin co., Gyeong korea) می باشـــد. ویژگی های حرکتی شـــامل VCL(velocity curvilinear) میانگین سـرعت در مسـیر منحنی، VSL(straight-line velocity) میانگین سـرعت حرکتی اسـپرم در مسـیر مسـتقیم، VAP(average path velocity) میانگین سرعت اسپرم در میانگین مســـیـر واقـعـی، LIN (linearity) خـطـی بـودن حـرکـت، STR(straightness) درصد مستقیم بودن، ALH (amplitude of lateral head displacement) دامنه نوسـانات جانبی سـر اسـپرم، BCF (beat-cross frequency) فرکانس نو سانات سرا سپرم که با اسـتفاده از نرم افزار CASA انجام شـد. قبل از ارزیابی اسـپرم‌ها با ن سبت ۲۵ میکرولیتر ا سپرم به ۹۷۵ میکرولیتر مایع رقیق کننده برای بدســـت آوردن غلظت حدود 25×10^6 اســـپرم در هر میلی لیتر رقیق شدند. سپس نمونه‌ها در میکروتیوب ۱/۵ میلی لیتری در بن ماری ۳۷ درجه نگهداری شد. برای هر ارزیابی ۵ میکرولیتر از ا سپرم رقیق شده را در اسـپرم چمبر لجا با عمق ۲۰ میکرون (leja products B. V., Nieuw-Vennep قرار داده و فیلد میکروسـکوپی برای حداقل ۱۰۰۰ اســپرم آنالیز شـــد. پارامترهای تحرک بوســیله نرم افزار CASA (Computer-assisted sperm analysis) مورد ارزیابی قرار گرفت.

درصـد زنده و مرده بودن اسـپرم و مورفولوژی آن به کمک رنگ آمیزی ائوزین- نیگروزین با بررســی حداقل ۲۰۰ اســپرم رقیق شــده بوسیله میکروسکوپ نوری ارزیابی شد. آکروزوم از طریق رنگ آمیزی diffQuik و به کمک میکروســکوپ نوری ســه چشــمی متصــل به دوربین و کامپیوتر انجام شـــد. حداقل ۱۰۰ اســـپرم برروی هر لام با بزرگنمایی ۱۰۰ مورد ارزیابی قرار گرفتند. (۲۷)

برای تعیین یکپارچگی غشــاء اســپرم آزمون تورم هیپواســمزی (HOS test) انجام شـــد. ابتدا ۲۰ میکرولیتر منی با ۲۰۰ میکرولیتر محلول هیپواســـمزی ۱۰۰ میلی اســـمول (۹گرم فروکتوز و ۴۶ گرم سـیترات سـدیم در یک لیتر آب مقطر) به مدت ۶۰ دقیقه در انکوباتور ۳۷ درجه ســـانتی گراد قرار گرفت. ســـپس ۱۰۰ میکرولیتر از مخلوط برروی لام گرم قرار داده شد و پس از لامل گذاری در زیر میکروسکوپ مورد ارزیابی قرار گرفتند که حداقل ۲۰۰ اســـپرم در ۵ فیلد بررســـی گردید. درصد اسپرم‌ها با دم متورم و گرد ثبت شدند (۲۱).

جداکردن چربی اسپرم و آنالیز آن

نمونـه‌هـای منی ۲ بـار بـا حجم برابر محلول نمکی

دالبکو(DPBS)(sigma.aldrich) شستشو شد. سپس لوله‌های حاوی ا سپرم به مدت ۲۰ دقیقه با g×۲۵۰ سانتریفیوژ شدند. ایجاد دو فاز در لوله به ازاء هر نیم گرم فاز پایینی در هر لوله آزمایش ، ۱۰ میکرولیتر محلول کلروفورم:متانول (۱:۲) و ۲ میلی لیتر محلول نمک طعام ۰،۹٪ اضـــافه شـــد (۱۸). ســـپس هرکدام از لوله ها به مدت ۱۰ دقیقه در ورتکس قرار گرفت. برای ترانس متیله کردن از محلول متانول:هگزان (نسبت۲:۱) استفاده شد. اسپرم‌های ترانس متیله شده به منظور تعیین ترکیب ا سیدهای چرب به آزمای شگاه بخش بیو شیمی دان شکده علوم پزشـکی منتقل شـد. اسـیدهای چرب بوسـیله دسـتگاه کروماتوگرافی گازی (مدل ۱۰۰۰ GC ســـاخت کمپانی DANI ایتالیا) اندازه گیری شد. دراین تحقیق از ستون کاپیلاری EC-1000 با ماهیت قطبی از جنس شـــیشـــه به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰،۳۲ میلی متر که ضخامت فازیالن آن ۰/۲۵ میکرومتر بود ا ستفاده شد. دمای ق سمت تزریق ۲۵۰ درجه سانتی گراد ، آ شکار ساز یونیزا سیون شعله ای با سوخت هیدروژن و اکسیداسیون هوا بود و برنامه دمایی به ۲۰۰ درجه ر سیده و تا پایان باقی می‌ماند. محنی‌های مربوطه ر سم شده و زمان بازداری مربوط به هراســـید چرب با منحنی مربوط به اســـید چرب استاندارد مقایسه گردید و نوع و میزان اسیدهای چرب موجود در نمونه ها مشخص شد.

بررســـی میزان آنزیم گلو تاتیون پراکســـیداز و هورمون تستسترون در خون

نمونه‌های خون در همزمان با نمونه گیری اســـپرم از طریق ورید گردن گرفته و درون لوله‌های هپارینه ریخته شـــدند. پس از انتقال به آزمایشگاه نمونه ها در g×۱۰۹۶ و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. پلاسمای جداشده تا زمان آنالیز در یخچال ۲۰- نگهداری شد. رسوب گلبول‌های قرمز پس از جداســـازی پلاســـما ۳ الی ۴ بار با ســـرم فیزیولوژی شسته و جهت لیزه شدن به آنها آب مقطر سرد اضافه و به مدت ۱۰-۲۰ دقیقه در هوای اتاق نگداری می‌شـدند. پس از گذشـت زمان مذکور مجدداً ۱۰ دقیقه دیگردر ســـانتریفیوژ قرارگرفتند. محلول شـفاف رویی بدسـت آمده در حجم‌های نیم میلی لیتر تقسـیم شـدند. فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکســـیداز به روش پالیجا و ولنتین (۲۹) و با کیت‌های تجاری (Ransel,Randox,UK) اندازه گیری شـــد. فعالیت آنزیمی در واحد گرم در هموگلوبین سنجش شد. هموگلوبین از طریق روش اســـتا ندارد ســـیانوهموگلوبین تعیین گرد ید. میزان هورمون تســتســترون خون نیز با اســتفاده از کیت‌های تجاری RIA (پارس آزمون، تهران) اندازه گیری شد.

تحلیل آماری

داده ها توســـط نرم افزار SAS 9.2 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (۳۵). نرمال بودن داده ها با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk و روش UNIVARIATE انجام شد. داده‌های اندازه گیری شده در طول زمان با استفاده از روش MIXED که در آن زمان نمونه برداری در عبارت REPEATED مورد ا ستفاده قرار گرفت ، تجزیه و تحلیل شد و حیوان در مدل معادله به عنوان یک عامل تصادفی در نظر گرفته شد. مقدار اولیه هر پارامتر اندازه گیری شده در ابتدای آزمایش در این مدل به عنوان متغیرهای متغیر برای پارامتر مربوط به آنها درج شده اسـت. نتایج به عنوان میانگین و خطای اسـتاندارد میانگین (SEM) گزارش شده است. از آزمون توکی برای مقایسه چند متغیره از میانگین استفاده شد و اختلاف آماری در $P < ۰/۰۵$ اعلام شد.

نتایج و بحث

ویژگی‌های منی

ا سیدهای چرب ا شباع ن شده تأثیر زیادی بر خ صو صیات کیفیت ا سپرم در گونه‌های مختلف دارند. در تلاش برای بهبود کیفیت ا سپرم قوچ ، یک جیره پایه با مقادیر مختلف دانه کتان تهیه شده و طی ۱۲ هفته از دوره آزمایشی مورد استفاده قرار گرفت.

مکمل دانه کتان بر محیط بیضه ، غلظت پلاسمایی تستوسترون و فعالیت گلوتاتیون پراکسیدها در جدول (۳)نشان داده شده است. ($P > 0.05$). اثر جیره ، طول زمان و و اثر متقابل آنها بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراک سیداز معنی دار نبود. نتایج مطالعه حا ضر ن شان داد که تغذیه قوچها با جیره پایه همراه با دانه کتان تاثیری بر قطر بیضـــه نداشته است. در مقابل ، در گاوهایی که روغن بذر کتان دریافت کرده اند ، افزایش در قطر ا سکروتوم دیده شد (۳۰). این تفاوت را می‌توان به اختلاف بین گونه ها و تولید مثل ف صلی در گو سفندان ن سبت داد. در این مطالعه اســـتفاده از ۱۰ درصـــد دانه کتان اثر معنی داری بر افزایش سطح هورمون ت ستو سترون دا شت و این م شابه نظر ح سین شاه و همکاران (۲۰) ا ست که اعلام کردند ا ستفاده از روغن این دانه موجب افزایش سطح تستوسترون سرم در بوفالوی نیلی می‌شود

نتایج ما نشـــان داد که افزودن ۱۰٪ دانه کتان به جیره غذایی ، غلظت ا سپرم را بعد از ۱۲ هفته افزایش می‌دهد. این افزایش غلظت ا سپرم به مرور زمان با افزایش سطح ت ستو سترون هم‌سو ا ست. این یافته ها در هماهنگی نزدیکی با مطالعه دیگری اســـت که گزارش کرده، رژیم غذایی N-3 PUFA باعث افزایش ا سپرماتوژنز از طریق محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-بیضه می‌شود (۳).

اثر افزودن دانه کتان در صفات کیفی ا سپرم قوچ در جدول (۴) نشان داده شده است. غلظت اسپرم ، نسبت اسپرم زنده ، تحرک کل، شاخص‌های عملکرد غ شای پلا سما در جیره حاوی ۱۰ در صد دانه کتان در مقایسه با گروه‌های ۵ در صد و صفر در صد بالاتر بود ($P < 0.05$). مکمل دانه کتان باعث افزایش درصد اسپرم با آکروزوم نرمال

می شود و همچنین در صد ا سپرم‌های غیر طبیعی در گروه ۱۰ در صد دانه کتان در مقایسه با سایر گروه‌های مربوطه کاهش یافته است (P <0.05).

حسین شاه و همکاران (۲۰) نیز اعلام کردند استفاده از روغن این دانه موجب افزایش سطح تستوسترون سرم در بوفالوی نیلی می‌شود. علاوه بر این، ارتباط معنی داری بین اضافه کردن ۱۰٪ از دانه کتان و اکثر خصو صیات ا سپرم که مورد ارزیابی قرار گرفتند از جمله ا سپرم زنده ، تحرک کل ، عملکرد غشای پلاسمایی و وضعیت آکروزوم بعد از ۱۲ هفته تغذیه با آن دیده شد که با یافته‌های قبلی در گاو نر (۳۰)، بز (۲۲) و خرگوش (۲۸) سازگار بود. تحرک و زنده ماندن بالاتر اسپرم که در گروهای ۱۰ در صد دانه کتان م شاهده می شود، که با غلظت بالاتری از PUFA ها از جمله DHA همراه است که می‌تواند موجب انعطاف پذیری و سیالیت غشای پلاسمایی که قبلا توضیح داده شده بود گردد. مشـخص شـده اسـت که تبدیل اسـیدهای چرب n-3 به DHA نقش مهمی در عملکرد فلاژلا و حرکت ا سپرم ها دارد (۱۹). همایون خان و همکاران (۲۴) نیز اعلام کردند که دانه کتان به‌عنوان منبع امگا ۳ می‌تواند سـبب اثرات مثبتی در پارامترهای تحرک اسـپرم در گاو نر بشود که این درصد تحرک بیشتر شاید ناشی از ترکیب اسید چرب دم اســپرم که تحت تاثیراســید چرب دانه کتان اســت باشــد. مطالعات نشان داد که بیشترین تاثیر PUFAs در ا سیدهای چرب دم اسـپرم که عامل اصـلی تحرک اسـت می‌باشـد (۲۸). جعفراوقلی و همکاران (۲۱) اعلام کردند احتمالاً تاثیرات بیشـتر منابع امگا۳ برروی اسـپرم‌های ضـعیف و یا خارج از فصـل تولید مثل می‌باشـد. مطالعات دیگر همچنین نشـــان دادند که این افزایش تعداد اســـپرم‌های زنده می‌تواند ناشی از مهار اپاپتوز بوسیله فعالیت PUFAs باشد (۱۰و ۲۸) . سـایر محققین نیز اعلام کردند DHA می‌تواند سـبب افزایش سـطح تستوسترون سرم و تحرک اسپرم در انسان، خوک، بز و گوسفند گردد و دانه کتان یک منبع غنی از DHA می‌باشد (۹، ۱۰ و ۲۷).

یکپارچگی غشاء اسپرم یکی از پیش فاکتورهای مهم برای کیفیت اسپرم و انجام واکنش آکروزومی جهت لقاح و باروری می‌باشد (۷). در این مطالعه مورفولوژی و غ شاء اکروزوم در تیمار ۱۰ در صد دانه کتان به طور معنی داری نسبت به گروه کنترل بهبود یافته بود که این یافته با تحقیقاتی که جعفراوقلی و همکاران (۲۱) برروی اسپرم قوچ، غلامی و همکاران (۱۶) براسـپرم گاوهولشـتین و ادل و همکاران (۱) بر روی اسـپرم بوفالو که پیشـتر از روغن ماهی به‌عنوان منبع امگا۳ اسـتفاده کرده بودند مطابقت دا شت. ت ست هیپوا سموتیک (HOST) که ن شان دهنده یکپارچگی کل غشاء اسپرم می‌باشد انجام شد و نتایج نشان داد دانه کتان در هر دوسـطح ۵ و ۱۰ درصـد موجب بهبود کیفیت غشـاء ا سپرم ن سبت به تیمار شاهد می شود که این افزایش کیفیت را شاید بتوان به PUFAs موجود دردانه کتان دانســـت که با تحقیقات دیگر همخوانی دارد(کارگر و همکاران (۲۲)؛ موریکاوی و همکاران (۲۸)).

تیمار ، طول زمان و اثر متقابل طول زمان و تیمار تأثیری بر LIN، STR، ALH و VCL ندا شت (P> 0.05 ؛ جدول ۵). با این حال ، BCF و VSL در گروه ۱۰ درصد دانه کتان در مقایسه با گروه ۵ درصد و شاهد بهبود یافته بود (P <0.05). تأثیر متقابل معنی داری از طول زمان و تیمار برای VAP م شاهده شد ، که مکمل دانه کتان در هفته اول آزمایش بر VAP تأثیر نمی‌گذارد اما VAP بالاتر در ۱۰ درصد در مقایسه با گروه‌های ۵ درصد و شاهد پس از ۱۲ هفته از دانه کتان ثبت شد (P <0.05). تأثیر مکمل دانه کتان در ترکیب اسیدهای چرب اسپرم قوچ در جدول (۶) نشان داده شده است. مکمل دانه کتان بر درصد میریستیک، پالمیتیک، استئاریک، اولئیک، لینولئیک، EPA و DPA تأثیر نگذا شت، اما میزان DHA و ن سبت n -3: n-6 PUFA ونسـبت SFA: PUFA تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت (P <0.05). گنجاندن جیره حاوی دانه کتان باعث افزایش DHA و ن سبت n-3: n-6 PUFA و کاهش ن سبت SFA: PUFA در گروه ۱۰ در صد در مقایسه با سایر گروه‌ها شد (P <0.05). اثر متقابل طول زمان و تیمار در DHA، n-3: n-6 و ن سبت SFA:PUFA ن شان داد که در پایان هفته اول آزماهاش تاث‌هار معن‌ها دارها وجود ندارد. با این حال ، DHA و نسبت n-3: n-6 PUFA بالاتر و نسبت SFA: PUFA در تیمار ۱۰ درصد دانه کتان در مقایسه با سایر تیمارها پایین تر بود (P <0.05).

برخی از شواهد حاکی از آن ا ست که امگا ۳ دارای خا صیت ضد التهابی و کاهش استرس اکسیداتیو می‌باشد (۴). گلوتاتیون پر اکسیداز از آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مهمی است که هیدروژن پراکسیداز را در حضور گلوتاتیون احیاء شده کاتالیز می‌کند (۳۳). در این تحقیق میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که افزودن دانه کتان ن‌می‌توانـد به طور معنی داری باعث افزایش این آنزیم در خون بشود.در مطالعه حاضر، همانطور که انتظار می‌رفت اسید چرب DHA در گروه تیمار ۱۰ درصد دانه کتان نسبت به سایر تیمارها افزایش معنی داری ن شان داد که م شابه نتیجه ای بود که صمدیان و هم‌کاران (۳۴) و جعفراوقلی و هم‌کاران (۲۱) از تاثیر روغن ماهی به‌عنوان منبع امگا۳ بر اسیدهای چرب اسپرم بدست آورده بودند.

جدول۳- تأثیر مکمل جیره دانه کتان بر قطر بیضه، غلظت تستوسترون پلاسما و گلوتاتیون پراکسیداز(GPX) در قوچهای کردی در پایان هفته های۱ و ۱۲ [۱]

Table 3- Effect of dietary flaxseed supplementation on testis circumference and plasma concentrations of testosterone and glutathione peroxides (GPX) in Kurdish rams at the end of 1 and 12 weeks [1]

متغییرها Variables	هفته اول First week			هفته ۱۲ 12 week			کل Total			SEM[4]	SEM Total	P value		
	0% دانه کتان FLS0%[3]	5% دانه کتان FLS5%	10% دانه کتان FLS10%	0% دانه کتان FLS0%	5% دانه کتان FLS5%	10%دانه کتان FLS10 %	0%دانه کتان FLS0%	5% دانه کتان FLS5%	10%دانه کتان FLS10 %			Treat ment	Time	Treatment × Time
محیط بیضه Testis circumferenc[2] (cm)	27.07	27.88	27.67	28.99	29.00	29.82	28.03	28.44	28.73	0.80	0.54	0.68	0.01	0.78
تستسترون Testosterone (nM/L)	4.53^{b}	4.82^{b}	4.87^{b}	5.22^{ab}	5.52^{a}b	6.54^{a}	4.87^{b}	5.17^{ab}	5.71^{a}	0.07	0.06	0.05	<0.01	0.29
گلوتاتیون پراکسیداز GSX (Hb/g)	385.00^{ab}	379.20^{b}	391.60^{ab}	388.60^{b}	391.00^{ab}	446.00^{a}	386.80	385.10	418.80	20.15	14.25	0.19	0.17	0.41

[۱] میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند (P< 0.05).
[۲] محیط هردو بیضه
[۳] دانه کتان
[۴] خطای استاندارد از میانگین

[1] Means in column with different superscripts differ significantly (P<0.05).
[2] Circumference of both testicles
[3] Flaxseed
[4] SEM, standard error of the mean

جدول ٤–تأثیر مکمل جیره دانه کتان در صفات کیفی اسپرم قوچ

Table 4. Effect of dietary flaxseed supplementation on quality attributes of ram sperm

متغیرها	هفته اول First week			هفته ۱۲ 12 week			کل Total			SEM	SEM Total	P value		
	0% دانه کتان FLS0%	5% دانه کتان FLS5%	10% دانه کتان FLS10%	0% دانه کتان FLS0%	5% دانه کتان FLS5%	10%دانه کتان FLS10%	0%دانه کتان FLS0%	5% دانه کتان FLS5%	10% دانه کتان FLS10 %			Treatment	Time	Treatment× Time
غلظت اسپرم Semen concentration (×109/ml)	2.92[b]	3.15[b]	3.31[b]	2.93[b]	3.26[b]	4.10[a]	2.93[b]	3.20[b]	3.70[a]	0.23	0.16	<0.01	0.12	0.21
اسپرم زنده (٪) Live sperm	59.00[b]	60.60[b]	61.84[b]	62.60[b]	64.80[b]	78.47[a]	60.80[b]	62.70[b]	70.16[a]	2.90	2.05	<0.01	<0.01	0.06
تحرک کلی Total motility (%)	53.80[b]	54.60[b]	55.28[b]	55.40[b]	57.34[b]	78.47[a]	54.60[b]	55.97[b]	62.24[a]	3.01	2.13	0.04	0.02	0.09
عملکرد غشای پلاسمایی Plasma membrane functionality (%)	71.80[b]	72.60[b]	73.75[b]	72.20[b]	74.56[b]	82.51[a]	72.00[b]	73.58[b]	78.13[a]	1.93	1.42	0.01	0.03	0.10
اسپرم غیر نرمال Abnormal sperm (%)	27.20[b]	26.72[b]	25.86[b]	26.70[b]	25.00[b]	19.00[a]	26.95[b]	25.86[b]	22.43[a]	1.70	1.20	1.20	0.04	0.16
آکروزوم نرمال Normal acrosome (%)	84.60[b]	85.40[b]	85.80[b]	86.38[b]	87.64[b]	91.68[a]	85.49[b]	86.52[b]	88.74[a]	1.42	1.01	0.08	<0.01	0.30

میانگینهای هر سطر با حروف غیر مشترک معنی دار می باشند(P<0.05)

۱ قوچ تغذیه شده با جیره پایه همراه با سطوح مختلف دانه کتان (۰ ، ۵ و ۱۰ درصد) طی ۱۲ هفته

[۲] خطای استاندارد از میانگین

The averages of each line with non-common letters are significant (P<0.05

[1] Rams fed with basic diet with different levels of flaxseed (0, 5 and 10%) during 12 weeks

[2] Note: SEM, standard error of the mean

جدول ۵- تأثیر مکمل جیره دانه کتان بر ویژگیهای حرکتی اسپرم قوچ

Table 5. Effect of dietary flaxseed supplementation on motion characteristics of ram sperm

متغییرها	هفته اول First week			هفته ۱۲ 12 week			کل Total			SEM	SEM Total	P value		
	0% دانه کتان FLS0%[1]	5% دانه کتان FLS5%	10% دانه کتان FLS10%	0% دانه کتان FLS0%	5% دانه کتان FLS5%	10% دانه کتان FLS10%	0% دانه کتان FLS0%	5% دانه کتان FLS5%	10% دانه کتان FLS10%			Treatment	Time	Treatment× Time
خطی بودن حرکت LIN(%)	61.90	62.56	63.60	63.48	63.60	64.00	62.69	63.08	63.80	1.93	1.37	0.84	0.53	0.21
درصد مستقیم بودن STR(%)	87.00	87.80^{ab}	88.20^{ab}	89.46^{ab}	90.00^{ab}	93.20^{a}	88.23	88.90	90.70	1.94	0.22	0.43	0.05	0.71
دامنه نوسانات جانبی سر اسپرم ALH(µm)	2.91	2.89	2.80	3.07	2.83	2.66	2.99	2.87	2.73	0.21	0.15	0.48	0.95	0.77
فرکانس نوسانات سراسپر BCF (Hz)	9.30^{c}	9.87^{bc}	10.32^{b}	9.60^{bc}	9.90^{bc}	11.31^{a}	9.45^{b}	9.89^{b}	10.82^{a}	0.31	0.22	<0.01	0.09	0.29
میانگین سرعت در مسیر منحنی VCL(µm/s)	149.00^{b}	148.00^{b}	151.20^{b}	149.60^{b}	150.60^{b}	159.20^{a}	149.30	149.30	155.20	3.07	2.17	0.11	0.15	0.47
میانگین سرعت حرکتی اسپرم در مسیر مستقیم VSL(µm/s)	104.20^{b}	105.00^{b}	106.36^{b}	104.30^{b}	105.20^{b}	110.88^{a}	104.25^{b}	105.10^{b}	108.62^{a}	1.16	0.82	<0.01	0.10	0.12
میانگین سرعت اسپرم در میانگین مسیر VAP(µm/s)	101.00^{b}	103.00^{b}	101.00^{b}	103.60^{b}	104.20^{b}	119.00^{a}	102.30^{b}	103.60^{b}	110.00^{a}	1.49	1.05	<0.01	<0.01	<0.01

میانگینهای هر ستون با حروف غیر مشترک معنی دار می باشند(P<0.05)

[۱] دانه کتان

میانگین سرعت در مسیر منحنی، میانگین سرعت حرکتی اسپرم در مسیر مستقیم، میانگین سرعت اسپرم در میانگین مسیر واقعی، خطی بودن حرکت، درصد مستقیم بودن، دامنه نوسانات جانبی سر اسپرم، فرکانس نوسانات سراسپرم

The averages of each line with non-common letters are significant (P<0.05)

[1] Flaxseed

(VSL) straight-line velocity, (VAP) average path velocity, (LIN) linearity, (STR) straightness, (ALH) amplitude of lateral head displacement ,(BCF) beat-cross frequency

جدول ٦– تأثیر مکمل جیره دانه کتان بر ترکیب اسیدهای چرب (درصد) اسپرم قوچ

Table 6. Effect of dietary flaxseed supplementation on fatty acid composition (%) of ram sperm

متغییرها	هفته اول First week			هفته ۱۲ 12 week			کل Total			SEM	SEM Total	P value		
	0% دانه کتان FLS0 %[1]	5% دانه کتان FLS5%	10% دانه کتان FLS10%	0% دانه کتان FLS0%	5% دانه کتان FLS5%	10%دانه کتان FLS10%	0%دانه کتان FLS0%	5% دانه کتان FLS5%	10%دانه کتان FLS10 %			Treatm ent	Time	Treatment× Time
میرستیک Myristic C14:0	7.12	7.32	7.56	7.21	7.04	6.88	7.17	7.18	7.22	0.54	0.38	0.99	0.51	0.77
پالمتیک Palmitic C16:0	28.13^{bc}	28.93^{abc}	29.19^{ab}	31.64^{a}	21.97^{bc}	25.72^{bc}	29.88^{a}	28.08^{ab}	27.45^{b}	1.22	0.87	0.14	0.57	0.02
استاریک Stearic C18:0	19.50	18.50	17.69	19.00	17.61	16.03	19.24	18.06	16.86	1.25	0.88	0.19	0.33	0.89
اولئیک Oleic C18:1	8.01	7.24	7.07	8.23	7.89	7.12	8.12^{a}	7.56^{ab}	7.09^{b}	0.52	0.36	0.16	0.47	0.84
لینئولئیک C18:2 (n − 6)	5.88^{a}	5.59^{a}	5.39^{a}	5.30^{ab}	4.92^{ab}	4.35^{b}	5.58^{a}	5.25^{ab}	4.87^{b}	0.34	0.24	0.14	0.01	0.87
ایکوزاپنتانوئیک اسید EPA[1] C20:4 (n − (6	2.52	2.81	2.96	2.44	2.89	3.11	2.48^{b}	2.85^{ab}	3.03^{a}	0.26	0.18	0.11	0.81	0.89
دوکوزاپنتانوئیک اسید (DPA20:5 (n − 3	0.60	0.54	0.54	0.63	0.64	0.70	0.62	0.59	0.62	0.06	0.04	0. 90	0.07	0.54
دوکوزاهگزانوئیک اسید[۲] DHA22:6 (n − 3)	22.18^{b}	22.52^{b}	22.90^{b}	23.08^{b}	24.54^{b}	31.47^{a}	22.63^{b}	23.53^{b}	27.19^{a}	0.84	0.60	<0.01	<0.01	<0.01
n-3/n-6	2.79^{b}	2.73^{b}	2.84^{b}	3.10^{b}	3.21^{b}	4.33^{a}	2.94^{b}	2.97^{b}	3.59^{a}	0.17	0.12	<0.01	<0.01	<0.01
SFA/PUFA[3]	$1.75a^{b}$	1.81^{ab}	1.78^{ab}	1.83^{a}	1.63^{b}	1.27^{c}	1.78^{a}	1.72^{a}	1.52^{a}	0.09	0.06	<0.01	<0.01	<0.01

خطای استاندارد از میانگین،

[۱] ایکوزاپنتانوئیک اسید،

[۲] دوکوزاهگزانوئیک اسید،

[۳] اسید چرب اشباع، اسید چرب غیر اشباع با باند مضاعف

Note: SEM, standard error of the mean;

[1] EPA, Eicosapentaenoic acid

[2] DHA, Docosahexaenoic acid

[3] SFA, Saturated fatty acid, PUFA, Polyunsaturated fatty acid.

در پژوهش Fair و همکاران (۱۴) که در آن قوچ ها با مکمل روغن ماهی تغذیه شــــده بودند، اختلاف معنی داری در میزان DHA م شاهده ن شد اما بیان کردند که غلظت EPA ا سپرم‌ها افزایش یافته ا ست این اختلاف یافته شاید به دلیل ف صل آزمایش و یا میزان ا سید چرب امگا ۳ جیره باشد. نسبت اسیدهای چرب اشباع به PUFA کمی کاهش یافته بود اما این تفاوت در هر دو سـطح ۵ و ۱۰ درصـد معنی دار نبود.

نتیجه‌گیری کلی

می‌توان نتیجه‌گیری کرد که افزودن ۱۰ در صد دانه کتان به جیره قوچ کردی در خارج از فصــل تولید مثل می‌تواند ســبب بهبود کیفیت اســپرم گردد. همچنین ترکیب اســید چرب اســپرم می‌تواند تحت تاثیر چربی جیره قرار گیرد. اما تحقیقات بیشــتری نیاز اســت تا بتوان اثرات دیگر اشــکال دانه کتان مانند روغن و پودر را بررســی کرد. همچنین پیشــنهاد می‌شــود در فصــل تولید مثل و با مقادیر دیگر نیز مطالعات مشابهی انجام گیرد.

منابع

1.Adeel, M. I. A. 2009. Improvement of liquid and frozen-thawed semen quality of Nili-Ravi buffalo bulls (Bubalusbubalis) through supplementation of fat. Theriogenology, 71:1220–1225.

2.Aksoy, Y., H. Aksoy, K. Altinkaynak, H. R. Aydin, and A. Ozkan. 2006. Sperm fatty acid composition in subfertile men. Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids. 75(2): 75-79

3.Al-Anazi, Y., M. Al-Mutary, M. Al-Ghadi, M. Alfuraiji, A. Al-Himaidi, and A. Ammari. 2017. Seasonal variations in scrotal circumference and semen characteristics of Naimi and Najdi rams in Saudi Arabia. South African Journal of Animal Science, 47: 454-459.

4.Aliasghari, F., M. H. Eftekhari, M. A. Babaei Beigi, J. Hasanzadeh, and N. Mazooji. 2013. The effect of conjugated linoleic acids and omega-3 fatty acids supplementation on some inflammatory and oxidative stress markers in atherosclerosis. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, 4:35-44.

5.Alizadeh, A., V. Esmaeili, A. Shahverdi, and M. Rashidi. 2014. Dietary Fish Oil Can Change Sperm Parameters and Fatty Acid Profiles of Ram Sperm during Oil Consumption Period and after Removal of Oil Source. Cell Journal, 16(3): 289-298.

6. Bouwens, M. V. D. 2009. Fish-oil supplementation induce antiinflammatory gene expression profiles in human blood mononuclear cells. American Journal of Clinical Nutrition, 90:415-424.

7. Brinsko, S. P., D. D. Varner, C. C. Love, T. L Blanchard, and Day. 2005. Effect of feeding a DHA-enriched nutriceutical on the quality of fresh, cooled and frozen stallion semen. Theriogenology, 63: 1519–1527.

8. Cerolini, S., L. Zaniboni, A. Maldjian, and T. Gliozzi. 2006. Effect of docosahexaenoic acid and [alpha]-tocopherol enrichment in chicken sperm on semen quality, sperm lipid composition and susceptibility to peroxidation. Theriogenology, 66: 877–886.

9. Conquer, J. A., J. B. Martin, I. Tummon, L. Watson and Tekp. 1999. Fatty acid analysis of blood serum, seminal plasma, and spermatozoa of normozoospermic vs Asthernozoospermic males. Lipids, 34: 793–799.

10-. Dolatpanah, M. B., A. Towhidi, A. Farshad, Rashidi A, and A. Ezayazdi_. 2008. Effect of fish oil on semenquality of goats. Asian-Australasian Journal of Animal Science, 21:29–34.

11.Drokin, S. I, T. N. Vaisberg, E. F. Kopeika, K. D. Miteva, and G. L. Pironecheva. 1999. Effect of cryopreservation on lipids and some physiological features of spermatozoa from rams pastured in highlands and in valleys. Cytobioscience, 100(393):27-36

12. Eslamian, G., N. Amirjannati, M. R. Sadeghi, Rashidkhani, B, S. Pahlavan, A. Hooshangi, and A. Hekmatdoost 2013. The effects of combined supplementation of docosahexaenoic acid and vitamin E on fatty acid changes in sperm membrane in asthenozoospermic men. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, 8 (1): 125-129.

13-. Esmaeili, V., A. Shahverdi, A. R. Alizadeh, H. Alipour, and A. Towhidi. 2012. Fatty acid profiles of ram's sperm after removing some fatty acid sources from the diets and persistency of fatty acids in sperm. International Journal of Fertility and Sterility, 5(4): 211-216.

14.Fair, S., D. N. Doyle, M. G. Diskin, and A. A. Hennessy. 2014. The effect of dietary n − 3 polyunsaturated fatty acids supplementation of rams on semen quality and subsequent quality of liquid stored semen. Theriogenology, 81: 210–219.

15. Folch, J. L. S. 1957. A simple method for theisolation and purification of total lipids from animal tissues. Journal of Biological Chemistry, 226: 497–509.

16. Gholami, H., M. Chamani, A, Towhidi, M. H. Fazeli. 2010. Effect of feeding a docosahexaenoic acid-enriched nutriceutical on the quality of fresh and frozen-thawed semen in Holstein bulls. Theriogenology, 74:1548–58.

17. Gulliver, C. E., M. A. Friend, B. J. King, and E. T. Clayton. 2012. The role of omega-3 polyunsaturated fatty acids in reproduction of sheep and cattle. Animal Reproduction Science, 131: 9–22.
18. Hamilton, S., R. J. Hamilton, and P. A. Sewell.1992. Extraction of lipids and derivative formation. In: Lipid Analysis—A Practical Approach. University Press, Oxford, UK, pp.13–64.
19. Hedayat-Evrigh, N., F. Moradi,V. Vahedi, B. Navidshad, and A. Seifi-Jamadi.2019. Influence of various dietary fat sources on freezing capacity of Moghani ram semen. South African Journal of Animal Science, 49: 505-512.
20. HussainShah, S. M., A. Shujait, M. Zubair, H. Jamil, and A. Nazir. 2016. Effect of supplementation of feed with Flaxseed (Linumusitatisimum) oil on libido and semen quality of Nilli-Ravi buffalo bulls. Journal of Animal Science and Technology, 58:25.
21. Jafaroghli, M., H. Abdi-Benemar, M. J. Zamiri, B. Khalili, A. Farshad, and A. Shadparvar. 2014. Effects of dietary n− 3 fatty acids and vitamin C on semen characteristics, lipid composition of sperm and blood metabolites in fat-tailed Moghani rams. Animal reproduction science, 147: 17-24.
22. Kargar, R., M. Forouzanfar, G, Ghalamkari, and M. H. Nasr Esfahani. 2017. Dietary flax seed oil and/or Vitamin E improve sperm parameters of cloned goats following freezing-thawing. Cryobiology, 74: 110-114.
23. Kesavulu, M. K. B. 2002. Effect of w-3 fatty acids on lipid peroxidation and antioxidant enzyme status in type2 diabetic patients. Diabetesmetab (paris), 28:20-26.
24. Khan, H., S. M. Qureshi, I. Khan, S. U. Rehman, and U. L. T Mehsud. 2015. Dietary Flaxseed supplementation effect on bovine semen quality parameters. Veterinaria, 3: 9-13.
25. Khosroshahi, H., J. Houshyar, A. Tabrizi, A, Vatankhah, and N. Zonouz. 2010. Effect of omega-3 fatty acid on oxidative stress in patients on hemodialysis. Iranian Journal of Kidney Diseases, 4:322-327.
26. Mania, S., R, Tylingo, and A. Michałowska. 2018. The drop-in-drop encapsulation in chitosan and sodium alginate as a method of prolonging the quality of linseed oil. Polymers, 10:1355.
27. Mehdizadeh haft cheshmeh, K., F. Farokhi Ardebili, and A. Bernoosi. 2011. Effect of staining method on morphometry of Ghezel sperm head with using CASA. First National Congress of Agricultural Science & Technology (MAST). University of Zanjan, 19 to 21 September.
28. Mourvaki, E., R. Cardinali, A.Dal Bosco, L. C. Corazzi, and C. Castellini. 2010.Effects of flaxseed dietary supplementation on sperm quality and on lipid composition of sperm subfractions and prostatic granules in rabbit. Theriogenology, 73: 629-637.
29. Paglia, D. E., and W. N. Valentine.1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. The Journal of laboratory and clinical medicine, 70: 158-169
30. Perumal, P., S. Chang, K. Kobu, K. Vupru, and S. Bag. 2019. Flaxseed oil modulates semen production and its quality profiles, freezability, testicular biometrics and endocrinological profiles in mithun. Theriogenology 136:47-59.
31. Piornos, J. A., C. Burgos-Díaz, E. Morales, M. Rubilar, and F. Acevedo. 2017. Highly efficient encapsulation of linseed oil into alginate/lupin protein beads: Optimization of the emulsion formulation. Food Hydrocolloids, 63: 139-148.
32. Rooke, J. A, C. C Shao, and B. K. Speake. 2001. Effects of feeding tuna oil on the lipid composition of pig spermatozoa and in vitro characteristics of semen. Reproduction, 121: 315–322.
33.Rush, J., and S. H. Sandiford. 2003. Plasma glutathione peroxidase in healthy young adults: influence of gender and physical activity. Clinical Biochemistry, 36:345-351.
34. Samadian, F., A, Towhidi, K. Rezayazdi, and M. Bahreini. 2010. Effects of dietary n-3 fatty acids on characteristics and lipid. Animal, 4 (12), 2017–2022.
35. SAS (2004) 'Statistical Analysis Software.' (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA.
36. Zaniboni, L., R. Rizzi, and S. Cerolini.2006. Combined effect of DHA and -tocopherol enrichment on sperm quality and fertility in the turkey. Theriogenology, 65: 1813–1827.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 2, Summer 2021, p. 221-233

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۲۳۳-۲۲۱

The effect of dietary flaxseed supplementation on sperm fatty acid composition, semen quality attributes and some blood parameters in Kurdish ram

Saeed Firouzeh[1] , Amir Hooshang Fallah rad[2*], Pezhman Mirshokraei[2] , Abbas Parham[3] and Mohsen Danesh mesgaran[4]

Submitted: 14-06-2020
Accepted: 19-10-2020

Introduction Reproductive performance of domestic animals has a great impact on the profitability of the farms. It has been shown that several factors such as breed, age, season and nutritional management affect the quality of the produced semen and consequently fertility of rams. Among various nutritional factors influencing semen quality, fat has a great impact on both quantity and quality of produced spermatozoa so that its value is correlated with cell membrane fluidity, potent intracellular signal transduction molecules, and susceptibility to oxidative damage. It has been postulated that by participating in sperm plasma membrane fatty acids (FA), the ingested fat can change the ratio of polyunsaturated to saturated fatty acids (PUFA: SFA) and thereby improve several aspects of sperm quality. Also, lipids comprise a wide-range class of molecules that not only is served as a source of energy but also play a crucial role in the structure and function of spermatozoa. Dietary n□3 PUFA supplementation has also shown to improve semen quality parameters in rams. Flaxseed oil contains up to 90% PUFAs, of which about 50% is α-linolenic acid. Several studies conducted during past decades indicate that dietary flaxseed supplementation improves sperm parameters of different species such as bovine, goat and rabbit.

Materials and Methods Fifteen mature 3-5 years old Kurdish ram weighing 65±2.5 kg (mean ±SE) were randomly allocated into three groups during 12 weeks of the experimental period. Animals were individually fed a standard basal diet supplemented with different levels of flaxseed. Treatment included FLS-0 (basal diet; control), FLS-5 (basal diet containing 5% flaxseed) and FLS-10 (basal diet containing 10% flaxseed. Blood and fresh semen samples were collected at weeks 1 and 12 of the experiment. The collected samples were examined for sperm concentrations, sperm motility, viability, acrosome integrity, host test and fatty acids profiles. The testis circumference was measured with flexible cloth tape. The largest circumference of the testes and both scrotum was measured after pushing the testes firmly into the scrotum. To measure plasma concentrations of glutathione peroxidase and testosterone, blood samples were collected from the jugular vein of all the rams at the beginning and after 1 and 12 weeks of feeding experimental diet.

Results and Discussion Flaxseed supplementation did not affect testicles circumference, however, supplementation of flaxseed increased plasma concentrations of testosterone in (10% flaxseed) FLS-10 group compared to (5% flaxseed) FLS-0 ($P<0.05$). Treatment, time and their interaction did not affect glutathione peroxidase (GPX) activity. Semen concentration, proportion of live sperm, total motility and plasma membrane functionality was higher in FLS-10 compared to FLS-5 and FLS-0 groups ($P<0.05$). Flaxseed supplementation tended to increase percentage of sperm with normal acrosome ($P<0.01$); however, percentage of abnormal was decreased in FLS-10 compared to the other corresponding groups ($P<0.05$). Treatment, time and interaction effect of treatment × time did not affect LIN, STR, ALH and VCL ($P>0.05$). However, BCF and VSL were improved in FLS-10 group as compared to the FLS-5 and FLS-0 group ($P<0.05$). A significant interactive effect of treatment

1-Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
2- Associate Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine; Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
3- Associate Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine; Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
4-Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
(*- Corresponding Author Email: umfallah@um.ac.ir)
DOI:10.22067/ijasr.v13i3.87332

× time was noted for VAP, where flaxseed supplementation did not affect VAP at first week of the experiment but higher VAP was recorded in FLS-10 compared to FLS-0 and FLS-0 groups after 12 weeks of flaxseed feeding (P<0.05). Flaxseed supplementation did not affect percentage of myristic, palmitic, stearic, oleic, linoleic, EPA and DPA, but the proportion of DHA, and the ratio of n-3:n-6 PUFA and SFA:PUFA was affected by the treatments (P<0.05). Dietary inclusion of flaxseed increased proportion of DHA and n-3: n-6 PUFA ratio and decreased SFA: PUFA ratio in FLS-10 compared to FLS-5 and FLS-0 (P<0.05). The interactive effect of treatment × time on DHA, n-3: n-6 and SFA: PUFA ratio revealed that there was no significant effect between treatment after first week of the experiment; however, proportion of DHA and n-3: n-6 PUFA ratio was higher and SFA: PUFA ratio was lower in FLS-10 compared to FLS-5 and FLS-0 (P<0.05). the significant correlations between addition of 10% flaxseed and most of the evaluated semen characteristics including live sperm, total motility, plasma membrane functionality, and acrosome status following 12 weeks of treatment feeding was in agreement with previous findings in male goat and rabbit. Other fatty acids concentrations, such as, linoleic acid, and docosahexaenoic acid (DHA) was improved by dietary flaxseed supplementation.

Conclusion It can be concluded that adding 10% flaxseed to the Kurdish ram diet out of the breeding season can improve sperm quality. Sperm fatty acid composition can also be affected by dietary fat. But more research is needed to look at the effects of other flaxseed products, such as oil and powder. It is recommended that similar studies be conducted during the breeding season and with other amounts of flaxseed.

Keywords: Fatty acid, Flaxseed, Omega-3, Kurdish Ram, Sperm